

Device and a method for separating liquid samples

Patent Number: ☐ US5264184
Publication date: 1993-11-23
Inventor(s): COLPAN METIN (DE); AYSTA JAMES E (US)
Applicant(s):: MINNESOTA MINING & MFG (US)
Requested Patent: ☐ DE4127276
Application Number: US19910671448 19910319
Priority Number (s): US19910671448 19910319
IPC Classification: B01L11/00 ; B01D29/00
EC Classification: B01D29/01, B01D61/18, B01L3/00C6D, B01L3/00C2D6
Equivalents: CA2105661, DE69206136D, DE69206136T, ☐ EP0576602 (WO9216294), B1, JP2807090B2, JP6506150T, ☐ WO9216294

Abstract

A device (10) for separating liquid samples has a sample container (12), bottom wall (20) of which has an outlet opening (22) provided therein. The outlet opening (22) is joined by an outlet spout (24) extending in the axial direction of the sample container (12). On bottom wall (20) there is a separation layer (28). Below sample container (12), a collecting container (32) is arranged abutting sample container (12) such that an exchange of air between the interior of the collecting chamber (32) and the environment is possible, yet an escape of liquid is largely inhibited. The contact surface between collecting chamber (32) and sample container (12) and end (26) of the outlet spout (24) through which the liquid is discharged, are axially spaced apart.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

THIS PAGE BLANK (USPTO)



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Patentschrift
⑩ DE 41 27 276 C 2

⑤1 Int. Cl.⁵: AN
B 01 D 29/085
B 01 D 29/05

467

E 2212/09/DE

②1 Aktenzeichen: P 41 27 276.5-27
②2 Anmeldetag: 17. 8. 91
④3 Offenlegungstag: 24. 9. 92
④5 Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 7. 10. 93

DE 41 27 276 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

③0 Unionspriorität: ③2 ③3 ③1
19.03.91 US 671448

⑦3 Patentinhaber:
Diagen Institut für molekularbiologische Diagnostik
GmbH, 4010 Hilden, DE; Minnesota Mining and Mfg.
Co., Saint Paul, Minn., US

⑦4 Vertreter:
von Kreisler, A., Dipl.-Chem.; Selting, G., Dipl.-Ing.;
Werner, H., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Fues, J.,
Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Böckmann gen. Dallmeyer,
G., Dipl.-Ing.; Hilleringmann, J., Dipl.-Ing.; Jönsson,
H., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Meyers, H., Dipl.-Chem.
Dr.rer.nat., Pat.-Anwälte, 50667 Köln

⑥2 Teil in: P 41 43 394.7

⑦2 Erfinder:
Colpan, Metin, Dr., 4300 Essen, DE; Aysta, James E.,
Stillwater, Minn., US

⑤6 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht gezogene Druckschriften:

US 44 85 015
US 36 08 736

⑤4 Vorrichtung und Verfahren zum Trennen von Flüssigkeitsproben

DE 41 27 276 C 2

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung gemäß dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1 zum Trennen von Flüssigkeitsproben, wie aus US-PS 4 902 481 bekannt.

Zum Trennen von Flüssigkeitsproben in ihre einzelnen Bestandteile, Reinigen bestimmter Komponenten der Flüssigkeitsprobe oder auch Filtern der Flüssigkeitsproben wird die Flüssigkeit in ein Probenaufnahmegefäß eingebracht (pipettiert), wo sie eine Filterschicht (Filterpapier, Glasfritte, Membran oder Material mit selektiver Adsorptionseigenschaft) durchdringt und über eine Auslaßöffnung gegebenenfalls tropfenweise in ein mit Abstand unter dem Probenaufnahmegefäß angeordnetes Auffangbehältnis gelangt. Das Probenaufnahmegefäß und das Auffangbehältnis sind im allgemeinen röhrenförmig ausgebildet, wobei die Filterschicht auf der mit der Auslaßöffnung versehenen stirnseitigen Bodenwand des Probenaufnahmegefäßes aufliegt. Die Auslaßöffnung hat einen Durchmesser von einigen wenigen 1/10 mm. Mehrere derartige Probenaufnahmegefäße sind nebeneinander in Reihen und Spalten angeordnet und über eine Trägerplatte miteinander verbunden. Das Durchdringen der Filterschicht erfolgt insbesondere durch Ansaugen der Flüssigkeitsprobe infolge des Unterdrucks in einer Unterdruckkammer. Zu diesem Zweck wird die einem Unterdruck aussetzbare Unterdruckkammer mit der die Probenaufnahmegefäße haltenden Trägerplatte luftdicht verschlossen. Innerhalb der Kammer befinden sich die den Probenaufnahmegefäßen zugeordneten Auffangbehältnisse, die in einem Gestell untergebracht und gehalten sind. Derartige Apparaturen werden beispielsweise in medizinisch-technischen Labors zum gleichzeitigen Filtern von einer Vielzahl von Flüssigkeitsproben mehrerer Patienten eingesetzt.

In die aus US-PS 49 02 481 bekannte Vorrichtung ist in die Unterdruckkammer ein Einsatzstück mit mehreren matrixförmig angeordneten Auffangbehältnissen eingesetzt, die jeweils unterhalb der Probenaufnahmegefäße angeordnet sind. Die die Probenaufnahmegefäße miteinander verbindende Trägerplatte befindet sich an den oberen Enden der Probenaufnahmegefäße. Die Probenaufnahmegefäße, die rohrförmig sind, wobei das untere stirnseitige Ende durch die Filterschicht verschlossen ist, sind in eine auf der Oberseite mit aufstehenden geschlossenen Rändern versehenen Steckplatte eingesteckt, die mit mehreren Löchern versehen ist. Auf der Unterseite schließt sich an jedes Loch ein relativ kurzes Auslaßröhrchen an, das eine gestufte Außenumfangsfläche aufweist. Ferner sind auf der Unterseite pro Auslaßröhrchen ein dieses umgebender geschlossener Rand angeformt, wobei der Durchmesser dieser Ringränder gleich den Durchmessern der Auffangbehältnisse ist, die mit Abstand unterhalb der geschlossenen Ränder auf der Unterseite der Steckplatte angeordnet sind. Die Auslaßröhrchen reichen dabei nicht bis in die zugehörigen Auffangbehältnisse hinein.

Die einzelnen Auffangbehältnisse der Vorrichtung nach US-PS 4 902 481 haben lediglich einen geringen Abstand voneinander. Aufgrund des Abstands der Auffangbehältnisse von den Probenaufnahmegefäßen besteht die Gefahr, daß Teile eines Flüssigkeitstropfens, der von dem unter einem Probenaufnahmegefäß angeordneten Auffangbehältnis aufgenommen werden soll, in ein benachbartes Auffangbehältnis gelangt und dessen "Filtrat" kontaminiert. Ferner ist die Tropfenbildung bei der bekannten Vorrichtung nach US-PS 4 902 481

nicht gleichförmig, insbesondere dann ungleichförmig, wenn die Unterdruckkammer kurzzeitig belüftet wird, um den in ihr untergebrachten Satz von Auffangbehältnissen gegen einen neuen auszuwechseln. Bei der Belüftung der Unterdruckkammer wird nämlich die Unterseite der Steckplatte mit Tropfenflüssigkeit benetzt. Bei anschließender Erzeugung eines Unterdrucks bilden sich nun relativ große Tropfen, da die angesaugte Flüssigkeit aufgrund der Benetzung der Unterseite sich entlang dieser ausbreitet. Hierbei kann der Tropfen bis zum Ringrand reichen, wo er über den Spalt zwischen Ringrand und Auffangbehältnis abgesaugt wird. Die Flüssigkeit gelangt also nicht in das gewünschte Auffangbehältnis, sondern unter Umständen in ein benachbartes Auffangbehältnis (Kontamination) bzw. läuft außen an den Auffangbehältnissen entlang. Kontaminationen der von den Auffangbehältnissen aufgefangenen Flüssigkeitstropfen sind insbesondere bei der Biopolymerpräparation von Flüssigkeitsproben nicht tolerierbar, da hier die Untersuchung von Nukleinsäuren und Proteinen nach vorheriger Durchführung mehrerer (25 bis 40) selbstreplizierender Zyklen, z. B. in der Polymerase Chain Reaction (PCR), durchgeführt wird, mithin sich bereits geringfügige Kontaminationen (Verunreinigungen von 1 : 1000) vervielfachen und somit zu fehlerhaften Ergebnissen bei der anschließenden Analyse führen.

Aus US-PS 4 777 021 und 4 427 415 sind derartige Vorrichtungen bekannt. Beiden bekannten Vorrichtungen gemeinsam ist der Umstand, daß die die Filterschichten durchdringenden Flüssigkeitstropfen der Proben in ein gemeinsames wannenartiges Auffangbehältnis gelangen, das Teil der Vakuum- oder Unterdruckkammer ist, die durch die die einzeln matrixförmig angeordnete Probenaufnahmegefäße miteinander verbindenden Trägerplatte verschlossen ist. Bei den bekannten Vorrichtungen zum Trennen von Flüssigkeitsproben ist der von bzw. in der Filterschicht zurückgehaltene Bestandteil der Probe von Interesse für die nachfolgenden Untersuchungen. Die die Filterschichten durchdringende Flüssigkeit ist für die weitere Analyse "verloren". Für die Trennung bei der chemischen oder der Biopolymerpräparation von Proben ist es jedoch erforderlich, die die Filterschicht durchdringende oder aus der Filterschicht durch Aufbringen von Lösungsmitteln ausgewaschenen bzw. gelösten Probenbestandteile einzeln oder getrennt voneinander auffangen zu können. Das läßt sich mit den bekannten Vorrichtungen nicht realisieren.

In US-PS 3 608 736 ist eine Filtervorrichtung beschrieben, bei der die zu filternde Flüssigkeit unter Schwerkrafteinwirkung aus einem (oberen) Probenaufnahmegefäß durch eine in diesem angeordnete Filterschicht in ein darunter angeordnetes Auffangbehältnis gelangt. Das Probenaufnahmegefäß hat einen Stutzen mit radialen Belüftungslöchern darin. Das Auffangbehältnis weist einen radial abstehenden Ringflansch auf. Der Stutzen des Probenaufnahmegefäßes umgibt von außen das Auffangbehältnis, wobei der Ringflansch das Ineinanderschieben von Probenaufnahmegefäß und Auffangbehältnis begrenzt. Dabei ist sichergestellt, daß der Rand des Auffangbehältnisses nicht bis zu den Belüftungslöchern reicht, diese also freiliegen und damit eine Vielzahl von Radialein- oder -auslässen für das Auffangbehältnis bilden. Das Auslaßröhrchen des Probenaufnahmegefäßes ist überdies kürzer als der Stutzen.

Bei der mit Ausnutzung der Schwerkraft arbeitenden Vorrichtung nach US-PS 4 485 015 weist das Probenaufnahmegefäß einen sich nach unten erstreckenden Ringfortsatz auf, der von außen vom Auffangbehältnis

umgeben ist. Das Auffangbehältnis ist unter Bildung eines Entlüftungsspaltess klemmend auf den Ringfortsatz aufgesteckt, wozu dieser radial außenliegende Klemmvorsprünge aufweist. An die Auslaßöffnung des Probenaufnahmegefäßes schließt sich ein Auslaßröhrchen nicht an, weshalb die Auslaßöffnung bezüglich des Ringfortsatzes zurückspringt, also nicht weiter sondern kürzer als der Ringfortsatz in das Auffangbehältnis hineinragt. Flüssigkeit, die den Bereich zwischen der Auslaßöffnung und dem unteren Ende des Ringfortsatzes verschließt, würde bei Unterdruck zum Ansaugen von Flüssigkeit in das Auffangbehältnis hinein sogleich in den Ringspalt zwischen Ringfortsatz und Auffangbehältnis gesaugt und damit aus dem Auffangbehältnis gelangen, wo sie benachbarte Proben kontaminieren kann.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zum Trennen von Flüssigkeiten durch Unterdruck zu schaffen, bei der eine Kontamination der von dem Auffangbehältnis aufgefangenen Flüssigkeit weitgehend unterbunden wird.

Zur Lösung dieser Aufgabe wird mit der Erfindung eine Vorrichtung mit den Merkmalen des Anspruchs 1 vorgeschlagen, wobei die Merkmale vorteilhafter Ausgestaltungen dieser Vorrichtung jeweils in den Unteransprüchen angegeben sind.

Bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist mit radialem Abstand um das Auslaßröhrchen herum einen Stutzen am Probenaufnahmegefäß vorgesehen, der kürzer ist als das Auslaßröhrchen. Auf diesen Stutzen ist das Auffangbehältnis lose aufsteckbar, wobei es den Stutzen von außen umgibt, ohne daß es durch den Stutzen luftdicht verschlossen ist. Das Auslaßröhrchen erstreckt sich bis weit in das Auffangbehältnis hinein, wobei es (wesentlich) tiefer als der Stutzen im Auffangbehältnis endet.

Die Flüssigkeits-(Tropfen-)Abgabestelle des Probenaufnahmegefäßes und die Berührungsfläche von Probenaufnahmegefäß und Auffangbehältnis liegen nicht in ein und derselben Horizontalebene, sondern einen Höhenabstand voneinander auf, der gewährleistet, daß ein am Ende des Auslaßröhrchens sich bildender Tropfen nicht in den Bereich der Berührung von Probenaufnahmegefäß und Auffangbehältnis gelangt. Ein sich am Ende des Auslaßröhrchens bildender Tropfen kommt damit weder mit dem Stutzen noch mit der Innenseite des Auffangbehältnisses im Bereich des Stutzens in Kontakt. Der Luftaustausch muß gewährleistet sein, damit das Ansaugen von Flüssigkeit in das Auffangbehältnis möglich ist, wenn sich dieses in einer Unterdruckkammer befindet. Der (optisch kaum wahrnehmbare) Luftspalt zwischen Auffangbehältnis und der Unterseite des Probenaufnahmegefäßes ist durch den Stutzen gegenüber dem Auslaßröhrchen abgeschirmt, was zum kontaminationsfreien Ansaugen von Flüssigkeit in das Auffangbehältnis beiträgt.

Bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung ragt das die Auslaßöffnung umgebende Auslaßröhrchen bis weit in das Auffangbehältnis hinein. Der Innendurchmesser des Auslaßröhrchens beträgt zwischen 0,1 bis 1 mm, vorzugsweise ca. 0,5 mm. Das Auslaßröhrchen hat eine Länge — von der Unterseite der Bodenwand gerechnet — von 5 bis 20 mm, vorzugsweise etwa 6 mm. Insgesamt liegt damit das Verhältnis aus Innendurchmesser des Auslaßröhrchens zur Länge des Auslaßröhrchens zwischen 0,005 bis 0,2, vorzugsweise bei ca. 0,08. Zu allen Seiten um das Ende des Auslaßröhrchens (Flüssigkeits- bzw. Tropfenabgabestelle) herum ist dieses gegenüber einem benachbarten Auffangbehältnis durch die Wan-

dung aus dem Auslaßrohr zugeordnetem Auffangbehältnis und zugehörigem Stutzen abgeschirmt. Eine Kontamination wird damit so gut wie ausgeschlossen. Ein übriges trägt die Berührung des Auffangbehältnisses im Bereich seiner Öffnung mit dem Probenaufnahmegefäß bei. Absolut luftdicht sollte diese Berührung nicht sein, da in dem Auffangbehältnis ein Unterdruck erzeugt werden und aufrechterhalten bleiben muß. Deshalb bildet sich zwischen dem Stutzen des Probenaufnahmegefäßes und dem Auffangbehältnis ein Ringspalt zum Luftaustausch, ohne daß über diesen Spalt Flüssigkeit oder Aerosole austreten können.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist insbesondere geeignet für die oben beschriebenen Apparaturen, bei denen die zu "trennenden" Flüssigkeitsproben mit Unterdruck durch die Filterschicht hindurch gesaugt und von den Auffangbehältnissen tropfenweise aufgefangen werden. Der nicht gänzlich luftdichte Abschluß des Auffangbehältnisses gegenüber der Umgebung sollte aber auch dann gegeben sein, wenn nicht mit Unterdruck gearbeitet wird, sondern die Flüssigkeit auf andere Weise, z. B. mittels einer Zentrifuge, durch die Filterschicht gedrückt wird. Die dabei in das Auffangbehältnis gelangende Flüssigkeit würde zu einem Druckanstieg im Auffangbehältnis führen, wenn dieses luftdicht verschlossen wäre. Daher ist auch hier ein nicht luftdichter Abschluß des Auffangbehältnisses wünschenswert.

Vorteilhafterweise ist die Auslaßöffnung in der Bodenwand des Probenaufnahmegefäßes angeordnet, wobei das Auffangbehältnis mit dem Rand seiner Öffnung an der Bodenwand anliegt. Das Auffangbehältnis umgibt hierbei nicht das Probenaufnahmegefäß seitlich, sondern ist gänzlich unterhalb des Probenaufnahmegefäßes angeordnet. Das Auffangbehältnis und das Probenaufnahmegefäß sind vorzugsweise als einige wenige Zentimeter lange Röhren ausgebildet und bestehen aus Kunststoff. Eine Stirnwand der Probenaufnahmegefäß-Röhre ist offen und stellt die Einlaßöffnung dar, während die andere Stirnwand bis auf ein kleines Loch verschlossen ist. Auf dieser die Bodenwand bildenden Stirnwand liegt die Filterschicht auf, die somit von der Bodenwand gestützt wird. Sofern das Material der Filterschicht selbsttragend ist (z. B. bei einer Glasfritte), ist die Stützung an der Bodenwand nicht erforderlich.

Vorzugsweise ist der Stutzen etwa halb so lang wie das Auslaßröhrchen. Das Probenaufnahmegefäß, das Auslaßröhrchen und der Stutzen sind vorteilhafterweise einstückig ausgebildet.

Das Probenaufnahmegefäß mit den angeformten Auslaßröhrchen und Stutzen sowie das Auffangbehältnis liegen vorteilhafterweise als Kunststoff-Spritzteile vor. Dies gilt auch für den Fall, daß mehrere Probenaufnahmegefäße auf einer gemeinsamen Trägerplatte angeordnet sind (sogenannte Mikrotiter-Platte).

Wie bereits oben erwähnt, ist die Erfindung insbesondere bei Apparaturen anwendbar, bei denen mehrere Probenaufnahmegefäße dicht nebeneinanderliegend angeordnet sind, so daß die gleichzeitige Trennung mehrerer Flüssigkeitsproben ermöglicht wird. Die Probenaufnahmegefäße sind entweder in einer einzigen Reihe nebeneinanderliegend angeordnet und miteinander verbunden (Probenaufnahmegefäß-Streifen) oder aber in einer zweidimensionalen Matrix in Reihen und zu diesen orthogonalen Spalten angeordnet und miteinander verbunden, wobei in jedem dieser Fälle jedem Probenaufnahmegefäß ein Auffangbehältnis zugeordnet ist. Da die Probenaufnahmegefäße Wand an Wand anliegen und röhrenförmig sind, ist der Stutzen zum

Aufstecken eines Auffangbehältnisses auf ein Probenaufnahmegefäß im Durchmesser vorzugsweise kleiner als der Durchmesser des röhrenförmigen Probenaufnahmegefäßes. Das hat den Vorteil, daß benachbarte Probenaufnahmegefäße nicht auf Abstand gehalten werden müssen, um zwischen ihnen ausreichend Platz für die aufsteckbaren Auffangbehältnisse zu schaffen. Die relativ hohe Packungsdichte der Probenaufnahmegefäße, wie sie von den obigen Apparaturen her bekannt ist (auf einer Fläche von etwa 100 cm² sind auf den im Stand der Technik bekannten Mikrofilter-Platten 96 Probenaufnahmegefäße untergebracht), kann hierbei beibehalten werden. Die Längenabmessungen einer Mikrotiterstandard-Platte beträgt ca. 12,3 cm und 8,2 cm.

Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung läßt sich eine physikalische, chemische oder Biopolymertrennung und/oder -Reinigung von pflanzliche, tierische oder menschliche Zellen beinhaltenden Flüssigkeiten, insbesondere die Trennung von Nukleinsäuren und/ oder Proteinen der Zellen durchführen. Hierzu durchdringt die Flüssigkeit in dem Probenaufnahmegefäß eine Schicht aus selektiv adsorbierendem Material, wobei die die Schicht verlassende Flüssigkeit in das Auffangbehältnis gelangt. Vorzugsweise weist die Schicht des selektiv adsorbierenden Materials chromatographische Eigenschaften auf, beispielsweise Ionenaustauscher-Eigenschaften oder affinitätschromatographische Eigenschaften, wenn die Schicht entsprechende Affinitätsliganden trägt. Eine bevorzugte Trennschicht weist eine fibrillierte Polytetrafluorethylen-Matrix mit darin eingebetteten sorptiven derivatisierten Siliziumdioxid-Partikeln, wie sie in US-PS 48 10 381 und US-PS 46 99 717 offenbart sind. Anschließend wird das Auffangbehältnis gegen ein neues ausgetauscht und auf die Schicht wird eine ein Lösungsmittel enthaltende Flüssigkeit gegeben, die einen bestimmten Anteil des in der Schicht adsorbierten Materials löst, so daß dieses in das Auffangbehältnis gelangt. Dabei ist entscheidend, daß dieses gelöste Material kontaminationsfrei aufgefangen wird, wobei diese Kontaminationsfreiheit auch dann noch gewährleistet ist, wenn mit Unterdruck gearbeitet wird und mehrere Probenaufnahmegefäße mit ihren Auffangbehältnissen dicht nebeneinanderliegend verwendet werden. Das Belüften der Unterdruckkammer beim Auswechseln der Auffangbehältnisse wirkt sich, wie bereits eingangs erwähnt, nachteilig auf die Tropfenbildung aus. Ein derartiges Austauschen der Auffangbehältnisse ist jedoch bei der Biopolymerpräparation erforderlich, da durch die mehrfache Zugabe von jeweils unterschiedliche Lösungsmittel enthaltenden Flüssigkeiten jeweils unterschiedliche in der Schicht adsorbierte Materialien gelöst und aufgefangen werden müssen. Die unterschiedliche Tropfenbildung ist insbesondere auf die Benetzung der Unterseite des Probenaufnahmegefäßbodens zurückzuführen. Da bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung die Tropfenabgabestelle aufgrund des langgestreckten Auslaßröhrchens weit nach unten verlegt ist, wird dieser (negative) Einflußfaktor für die unterschiedliche Tropfenbildung ausgeschlossen.

Bei einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung ist die Filterschicht mittels eines Halterings an der Bodenwand des Probenaufnahmegefäßes anliegend gehalten. Der Haltering ist in dem Probenaufnahmegefäß eingesetzt, wobei er mit Spannung gegen die Innenseite des Probenaufnahmegefäßes drückt. Der Ring besteht aus einem gummiartigen, vorzugsweise Kunststoffmaterial.

Die Filterschicht der erfindungsgemäßen Vorrichtung kann ein- oder mehrlagig ausgebildet sein. Bevorzugte Trennschichten weisen eine fibrillierte Polytetrafluorethylen-Matrix mit darin eingebetteten sorptiven Partikeln auf, wie sie zum Beispiel in US-PS 48 10 381 offenbart ist. Insbesondere kann die Filterschicht aus zwei porösen Fixiereinrichtungen, insbesondere Fritten, mit dazwischenliegenden Partikeln bestehen. Vorzugsweise haben die insbesondere in Form von Schüttgut eingebrachten Partikel chromatographische Eigenschaften, wie sie oben beschrieben sind. Die Partikel bestehen aus einem Material, das auf Silikagel, Dextran oder Agarose basiert. Die Fritten bestehen beispielsweise aus Glas, Polyethylen (PE) oder Polytetrafluorethylen (PTFE) und weisen eine Porosität von ca. 0,1 bis 250 µm, vorzugsweise ca. 100 µm auf. Die Dicke der Partikelschicht beträgt ca. 1 bis 10 mm, vorzugsweise ca. 2,5 mm, bei einer Partikelgröße von 1 bis 300 µm, vorzugsweise 16 bis 23 µm.

Gemäß einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung weist die Filterschicht eine Trägermembran auf, in die die adsorbierenden bzw. chromatographischen Partikel eingebettet sind. Da die Trägermembran relativ brüchig ist und deshalb die Gefahr besteht, daß sie bei Aufbringen eines Unterdruckes bricht (relativ hoher Differenzdruck), wird unterhalb der Trägermembran eine Stützgewebe-Schicht angeordnet, die die Trägermembran gegen den Boden des Probenaufnahmegefäßes abstützt und vorzugsweise aus einem Vliesstoff aus Polyalkylen-Fasern, wie zum Beispiel Polypropylen- oder Polyethylen-Fasern besteht.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist auf die hier angegebenen Abmessungen der einzelnen Teile nicht beschränkt. Grundsätzlich läßt sich die erfindungsgemäße Vorrichtung in jeder beliebigen Größe herstellen, wobei auch die oben beschriebene Weiterbildung der Erfindung zum gleichzeitigen Trennen einer Vielzahl von Proben prinzipiell nicht auf die dort angegebenen Abmessungen und sonstigen Zahlenangaben beschränkt ist.

Nachfolgend werden anhand der Figuren Ausführungsbeispiele der Erfindung näher erläutert. Im einzelnen zeigen:

Fig. 1 eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung im Längsschnitt,

Fig. 2 in Seitenansicht eine Apparatur, bei der mittels Unterdruck die in einer Vielzahl von Probenaufnahmegefäßen befindlichen Flüssigkeitsproben durch die Filterschichten hindurch gesaugt und in den einzelnen Probenaufnahmegefäßen zugeordneten Auffangbehältnissen aufgefangen werden,

Fig. 3 eine Abdeckplatte für die Apparatur nach Fig. 2, von der mehrere in einer Reihe nebeneinanderliegend angeordnete Probenaufnahmegefäße aufgenommen werden und

Fig. 4 im Teillängsschnitt ein weiteres Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer Abstützung der Filterschicht.

Gemäß Fig. 1 weist die Vorrichtung 10 ein röhrenförmiges Probenaufnahmegefäß 12 auf, dessen oberes stirnseitiges Ende 14 offen ist und die Einlaßöffnung 16 des Probenaufnahmegefäßes 12 darstellt. Diese Einlaßöffnung 16 erstreckt sich über die gesamte obere Stirnseite des röhrenförmigen Gefäßes. Die untere Stirnseite 18 ist mit einer kreisrunden Bodenwand 20 versehen. In der Bodenwand 20 ist eine zentrale Auslaßöffnung 22 in Form eines Loches ausgebildet, das einen Durchmesser von einigen 1/10 mm (0,2–0,9 mm, vorzugsweise

0,4–0,6 mm) aufweist. An der Unterseite der Bodenwand 20 ist ein konisches Auslaßröhrchen 24 angeformt, das die Auslaßöffnung 22 umschließt und sich in axialer Richtung des Probenaufnahmegefäßes 12 erstreckt. Das Auslaßröhrchen 24 verjüngt sich zu seinem freien Ende 26 hin und hat eine Länge von bis zu 2 cm (vorzugsweise 0,1–1 cm, höchst vorzugsweise 0,2–1 cm) bei einem (gegebenenfalls zum Ende hin abnehmenden) Durchmesser von 0,3 bis 2,0 mm. Innerhalb des Probenaufnahmegefäßes 12 ist eine Filterschicht 28 angeordnet, die aus einem selektiv adsorbierenden Material besteht. Bei der Schicht 28 handelt es sich um eine Spezialgewebefolie. Die Schicht 28 liegt auf der Bodenwand 20 des Probenaufnahmegefäßes 12 auf und überdeckt dabei die Auslaßöffnung 22. Die Schicht 28 wird durch einen gummiartigen, vorzugsweise Kunststoff-Haltering 30, der gegen die Innenwand des Probenaufnahmegefäßes 12 andrückt, an der Bodenwand 20 gehalten. Die Schicht 28 erlaubt die selektive Adsorption von Inhaltsstoffen, insbesondere von Nukleinsäuren und Proteinen in Flüssigkeiten, in denen vollständige pflanzliche, tierische oder menschliche Zellen oder Teile davon enthalten sind.

Unterhalb des röhrenförmigen Probenaufnahmegefäßes 12 befindet sich ein Auffangbehältnis 32, das vorzugsweise ebenfalls röhrenförmig ist und die Form eines Reagenzglases aufweisen kann. Der Bodenbereich des Auffangbehältnisses 32 kann dabei auch sich konisch nach unten verjüngend ausgestaltet sein. Der Durchmesser des Auffangbehältnisses 32 entspricht in etwa demjenigen des Probenaufnahmegefäßes 12; das Auffangbehältnis 32 weist vorzugsweise etwa die 1 1/2-fache axiale Länge des Probenaufnahmegefäßes 12 auf. An seinem oberen Ende 34 ist das Auffangbehältnis 32 offen; dieses offene Ende bildet die Öffnung 36 des Auffangbehältnisses 32. Das Auffangbehältnis 32 liegt mit seinem die Öffnung 36 begrenzenden Öffnungsrand 38 an der Unterseite der Bodenwand 20 des Probenaufnahmegefäßes 12 an. Dabei schließt der Öffnungsrand 38 nicht luftdicht mit der Bodenwand 20 ab; vielmehr ist bei gegen die Bodenwand 20 anstoßendem Auffangbehältnis 32 noch ein Luftaustausch zwischen dem Inneren des Auffangbehältnisses 32 und dessen Umgebung möglich. Dieser Luftaustausch ist erforderlich, wenn die Vorrichtung 10 in einer Apparatur eingesetzt wird, bei der mittels Unterdruck die Probenflüssigkeit durch die Filterschicht 28 hindurch in das Auffangbehältnis 32 gesaugt wird. Die Halterung oder Stützung des Auffangbehältnisses 32 ist in Fig. 1 der Einfachheit halber nicht dargestellt; eine mögliche Abstützung wird im Zusammenhang mit Fig. 2 beschrieben werden.

Wie anhand von Fig. 1 zu erkennen ist, ragt das Auslaßröhrchen 24 bis weit, d. h. einige Millimeter bis einige Zentimeter, in das Innere des Auffangbehältnisses 32 hinein. Ein sich am Ende 26 des Auslaßröhrchens 24 bildender Tropfen befindet sich demzufolge nicht im Bereich des Öffnungsrandes 38, wo er aufgrund des nicht vollständigen Abschlusses des Auffangbehältnisses 32 gegenüber dem Probenaufnahmegefäß 12 austreten könnte. Die Kontaminationsgefahr bei dicht nebeneinander angeordneten Vorrichtungen 10 ist also weitestgehend ausgeschlossen, da zwischen der Tropfenabgabestelle (freies Ende 26 des Auslaßröhrchens 24) und der Öffnung 36 des Auffangbehältnisses 32 ein ausreichender axialer Abstand gegeben ist.

An der Unterseite der Bodenwand 20 des Probenaufnahmegefäßes 12 ist ein kragenartiger axial abstehender Ringstutzen 40 angeformt, der das Auslaßröhrchen 24 coaxial umgibt. Der Stutzen 40 ist kürzer als das

Auslaßröhrchen 24, letzteres ragt also nach unten, vorzugsweise um etwa seine halbe Länge, über das Ende des Stutzens 40 über. Von außen auf den Stutzen 40 aufgesetzt ist das Auffangbehältnis 32, dessen Innenwand mit der Außenseite des Stutzens 40 in loser Berührung steht; zwischen dem Stutzen 40 und dem Auffangbehältnis 32 besteht also eine Spielpassung, die den nicht luftdichten Abschluß des Auffangbehältnisses gewährleistet, ein Austreten von Flüssigkeit aus dem Auffangbehältnis 32 aber erschwert. In Fig. 1 ist die Spielpassung übertrieben als ein am Luftaustausch zwischen dem Inneren des Auffangbehältnisses 32 und der Umgebung ermöglichender Ringspalt 41 dargestellt. Der Stutzen 40 hat primär nicht die Aufgabe, das Auffangbehältnis 32 am Probenaufnahmegefäß 12 zu halten, sondern dient in erster Linie dazu, eine Barriere gegen das Austreten von Flüssigkeit aus dem Auffangbehältnis 32 zu bilden. Der Stutzen 40 hat vorzugsweise eine Länge von ca. 4 mm und einen Durchmesser von 5 bis 8 mm, vorzugsweise 6,5 mm. Das Auslaßröhrchen 24 ragt um mehr als 2 mm nach unten über den Stutzen 40 über, weist also eine Länge von mehr als 6 mm auf. Das Probenaufnahmegefäß 12 und das Auffangbehältnis 32 weisen einen Außendurchmesser von etwa 8 mm auf. Bei diesen Abmessungen lassen sich 96 matrixförmig angeordnete Probenaufnahmegefäße mit gegenseitigem Abstand von ca. 1 mm auf einer gemeinsamen Trägerplatte mit Mikrotiterplatten-Standard unterbringen. Die Länge, um die das Auslaßröhrchen 24 über den Stutzen 40 nach unten übersteht, sollte mindestens gleich der Hälfte des Durchmessers des größtmöglichen Flüssigkeitstropfens sein.

Wie in Fig. 1 bei 42 angedeutet, ist die Bodenwand 20 eines Probenaufnahmegefäßes 12 Teil einer Trägerplatte, über die eine Vielzahl von Probenaufnahmegefäßen 12 miteinander verbunden sind. Bei der Trägerplatte 42 handelt es sich z. B. um eine Mikrotiter-Platte, mit der 96 Probenaufnahmegefäße 12 einstückig verbunden sind. Die Trägerplatte 42, die Probenaufnahmegefäße 12, die Auslaßröhrchen 24 und der Stutzen 40 sind einstückig miteinander verbunden und als Kunststoffspritzteil gefertigt. Die Trägerplatte 42 verschließt in bekannter Weise eine Unterdruckkammer, in der die Auffangbehältnisse 32 untergebracht sind.

Da die Tropfenabgabestelle (unteres Ende 26 des Auslaßröhrchens 24) in zum Durchmesser eines Flüssigkeitstropfens von typischerweise ca. 50 µl relativ großem Abstand zur (Unterseite der) Bodenwand 24 und damit zur Berührungsfläche zwischen Probenaufnahmegefäß 12 und Auffangbehältnis 32 angeordnet ist, berührt ein Flüssigkeitstropfen die Bodenwand 24 bzw. den Stutzen 40 auch nach einer Belüftung der Unterseite der Bodenwand 24 und des Auffangbehältnisses 32 nicht. Der Flüssigkeitstropfen wird demzufolge vollständig von dem darunter angeordneten Auffangbehältnis aufgenommen und gelangt nicht in den Bereich außerhalb dieses Auffangbehältnisses, so daß eine Kontamination der in einem benachbarten Auffangbehältnis enthaltenden Flüssigkeit so gut wie ausgeschlossen ist.

In den Fig. 2 und 3 ist eine Apparatur bzw. Teile derselben dargestellt, bei der die in einer Vielzahl von Probenaufnahmegefäßen befindlichen Flüssigkeitsproben mittels Unterdruck durch die Filterschichten hindurch in mehrere Auffangbehältnisse gesaugt werden. Jedem Probenaufnahmegefäß ist dabei ein Auffangbehältnis zugeordnet. Die Apparatur 43 weist ein rechteckiges Gehäusebodenteil 44 auf, das nach oben hin offen ist und in dessen die Öffnung begrenzenden Rand eine

Dichtungsringschnur 46 eingelassen ist. In einer der Seitenwände des Gehäusebodenteils 44 ist ein Anschlußstutzen 48 für den Ansaugschlauch 49 einer (nicht dargestellten) Vakuumpumpe eingebracht. In dem Gehäusebodenteil 44 ist ein Gestell 50 untergebracht, in dem mehrere in Reihen und Spalten nebeneinanderliegend angeordnete Aufnahmeöffnungen angeordnet sind, in denen die Auffangbehältnisse 32 eingesteckt und gehalten sind.

Auf das Gehäusebodenteil 44 aufgesetzt ist ein Trägerrahmenteil 52, das auf der Dichtungsringschnur 46 aufliegt. Durch geeignete Ausgestaltung des Trägerrahmentails 52 und des Gehäusebodenteils 44 wird eine seitliche Verschiebung des Trägerrahmentails 52 relativ zum Gehäusebodenteil 44 verhindert. Das Trägerrahmenteil 52 trägt einen rechteckigen Materialblock 54 (im allgemeinen aus Kunststoffmaterial), der mit seinem Randbereich auf einer Dichtungsringschnur 56 aus Gummi aufliegt, die am Trägerrahmenteil 52 befestigt ist. In dem Materialblock 54 sind eine Vielzahl von in Reihen und Spalten angeordneten vertikalen Sackbohrungen 58 (Bohrlöcher) vorgesehen, die Probenaufnahmegefäße bilden. Die Positionen der Bohrungen 58 entsprechen denjenigen der Auffangbehältnisse 32 in dem Gestell 50. Jede Bohrung 58 fluchtet also mit einem Auffangbehältnis 32.

Die unteren Enden der Bohrungen 58 sind bis auf einen kleinen zentralen Kanal (Öffnung) verschlossen. Auf dem Boden der Bohrlöcher 58 sind die Filterschichten angeordnet, wobei sie die Bodenlöcher überdecken. Auf der den Auffangbehältnissen 32 zugewandten Unterseite des Materialblockes 54 ist pro Loch ein konisches Auslaßröhrchen 60 vorgesehen, das bei auf das Trägerrahmenteil 52 aufgesetztem Materialblock 54 in das zugehörige Auffangbehältnis 32 hineinragt. Dabei liegt der Öffnungsrand des Auffangbehältnisses an der Unterseite des Materialblockes 54 an. Die Berührung eines Auffangbehältnisses 32 mit der Unterseite des Materialblockes 54 kann auf die in Fig. 1 dargestellte Weise erfolgen.

An zwei gegenüberliegenden Außenwänden des Gehäusebodenteils 44 ist jeweils ein Hakenbügel 62 vorgesehen, mit denen ein Spannbügel 64 festziehbar ist, der den Materialblock 54 überspannt und gegen das Trägerrahmenteil 52 sowie dieses gegen das Gehäusebodenteil 44 drückt. Infolge der Dichtungsringschnüre 46 und 56 ist damit der von dem Gehäusebodenteil 44, dem Trägerrahmenteil 52 und dem Materialblock 54 begrenzte Raum 66 luftdicht verschlossen. Bei Erzeugung eines Unterdrucks im Raum 66 werden in den Bohrlöchern 58 befindliche Flüssigkeitsproben durch die jeweiligen Filterschichten hindurch angesaugt, wobei sie über die Auslaßröhrchen 60 in die jeweiligen Auffangbehältnisse 32 gelangen. Wegen des "flüssigkeitsdichten" Abschlusses der Auffangbehältnisse 32 ist Kontaminationsfreiheit gesichert.

In Fig. 3 ist eine Lochplatte 68 dargestellt, die anstelle des Materialblockes 54 der Apparatur 42 nach Fig. 2 eingesetzt wird, wenn ein Probenaufnahmegefäßstreifen 70, der aus mehreren in einer Reihe nebeneinander angeordneten und miteinander verbundenen Probenaufnahmegefäßen 12 besteht, verwendet wird. In dem in Fig. 3 dargestellten Fall sind acht Probenaufnahmegefäße 12 zum Probenaufnahmegefäßstreifen 70 zusammengefaßt. Die miteinander verbundenen Probenaufnahmegefäße 12 sind von einem rechtwinklig zur axialen Erstreckung der Probenaufnahmegefäße 12 verlaufenden Flansch 72 umgeben. Der Flansch 72 ist etwa in Höhe

der Mitte der Probenaufnahmegefäße 12 angeordnet. Der Probenaufnahmegefäßstreifen 70 wird auf die Lochplatte 68 aufgesteckt, wobei der untere Teil der Probenaufnahmegefäße 12 die Löcher 74 durchdringen, bis die Unterseite des Flansches 72 auf der Oberseite der Lochplatte 68 aufliegen. Der Zwischenraum zwischen den einzelnen Löchern 74 in der Lochplatte 68 ist ebenfalls ausgespart, so daß sich insgesamt ein Langloch 76 mit wellenförmigem Rand ergibt. Um dieses Langloch 76 herum ist auf der Oberseite der Lochplatte 68 eine Dichtungsringschnur 78 angeordnet, die in eine Nut eingesetzt ist und auf der die Unterseite des Flansches 72 ruht.

Fig. 4 stellt ein abgewandeltes Ausführungsbeispiel der Erfindung dar, mit einem porösen Material 80, zum Beispiel Polyalkylen, Polytetrafluorethylen oder Papier, das zwischen der Trennschicht 28 und der Bodenwand 20 innerhalb des Probenbehälters 12 angeordnet ist. Die Bodenwand 20 weist eine oder mehrere radial angeordnete Rillen 82 sowie die Rillen 82 überlagerndes faseriges Material 80 auf.

Die Ausbildung der Bodenwand bei dem Ausführungsbeispiel der Fig. 4 läßt sich auch bei den in Zusammenhang mit den Fig. 1 beschriebenen Ausführungsbeispiel realisieren.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zum Trennen von Flüssigkeitsproben, mit

- einem Probenaufnahmegefäß (12), das eine Einlaßöffnung (16) und eine Auslaßöffnung (22) aufweist, zwischen denen eine Filterschicht (28) angeordnet ist,
- einem eine Öffnung (36) aufweisenden Auffangbehältnis (32) für die durch die Auslaßöffnung (22) hindurch austretende Flüssigkeit,
- einem sich an die Auslaßöffnung (22) anschließenden und diese umgebenden Auslaßröhrchen (24) und
- einer das Auffangbehältnis (32) aufnehmenden, luftdicht verschließbaren Unterdruckkammer, in die das Probenaufnahmegefäß (12) mit seinem Auslaßröhrchen (24) hineinragt und in der zum Ansaugen der Flüssigkeitsprobe aus dem Probenaufnahmegefäß (12) durch die Filterschicht (28) hindurch in das Auffangbehältnis (32) hinein ein Unterdruck gegenüber dem Probenaufnahmegefäß (12) einstellbar ist,

dadurch gekennzeichnet,

- daß an dem Probenaufnahmegefäß (12) ein das Auslaßröhrchen (24) umgebender Stutzen (40) angeformt ist,
- daß das Auffangbehältnis (32) mit seiner Öffnung (36) von außen derart lose auf den Stutzen (40) aufsteckbar ist, daß diese Steckverbindung einen Luftaustausch zwischen dem Innern des Auffangbehältnisses (32) und dessen Umgebung erlaubt, und
- daß das Auslaßröhrchen (24) länger ist als der Stutzen (40), und durch die Öffnung (36) des Auffangbehältnisses (32) hindurch bis in dieses hineinragt.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Stutzen (40) etwa halb so lang ist wie das Auslaßröhrchen (24).

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch

gekennzeichnet, daß die Auslaßöffnung (22) in der Bodenwand (20) des Probenaufnahmegefäßes (12) angeordnet ist und das das Auffangbehältnis (32) mit dem Rand (38) seiner Öffnung (36) an der Bodenwand (20) anliegt.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Auslaßröhrchen (24) zum Ende hin konisch zuläuft.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Probenaufnahmegefäß (12) und das Auffangbehältnis (32) jeweils im wesentlichen röhrenförmig sind.

6. Vorrichtung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Außendurchmesser des Stützens (40) kleiner ist als derjenige des röhrenförmigen Probenaufnahmegefäßes (12).

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Filterschicht (28) von einem Haltering (30) an der Bodenwand (20) des Probenaufnahmegefäßes (12) anliegend gehalten ist, wobei sich der Haltering (30) radial gegen die Innenseite des Probenaufnahmegefäßes (12) abstützt.

8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Probenaufnahmegefäß (12), das Auslaßröhrchen (24) und der Stutzen (40) einstückig ausgebildet sind.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere Probenaufnahmegefäße (12) in einer Reihe nebeneinanderliegend angeordnet und miteinander verbunden sind und daß jedem dieser Probenaufnahmegefäße (12) ein Auffangbehältnis (32) zugeordnet ist.

10. Vorrichtung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Reihe von Probenaufnahmegefäßen (12) einen gemeinsamen umlaufenden Flansch (72) aufweist.

11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere Probenaufnahmegefäße (12) vorgesehen sind, die in Reihen und zu diesen orthogonalen Spalten angeordnet und miteinander verbunden sind, wobei jedem Probenaufnahmegefäß ein Auffangbehältnis (32) zugeordnet ist.

12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Flüssigkeitsprobe Bestandteile wie Nukleinsäuren und Proteine aus pflanzlichen, tierischen oder menschlichen Zellen enthält und daß die Filterschicht (28) ein diese Bestandteile der Flüssigkeitsprobe selektiv adsorbierendes Material, insbesondere ein Ionenaustauscher-Material oder ein Material mit Affinitätschromatographischen Eigenschaften aufweist.

13. Vorrichtung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß unterhalb der Filterschicht (28) eine Stützgewebeschicht, insbesondere einer Vliesstoffschicht aus Polypropylen-Fasern angeordnet ist.

14. Vorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das adsorbierende Material in Partikelform vorliegt und daß die Schicht aus Partikeln von zwei Fixiereinrichtungen, insbesondere Fritten aus Glas, PE oder PTFE eingeschlossen ist.

15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß das selektiv adsorbierende Material auf Silikagel, Dextran oder Agarose basiert.

16. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 15,

dadurch gekennzeichnet, daß die Filterschicht (28) eine fibrillierte Polytetrafluorethylen-Matrix mit darin eingebetteten sorptiven Partikeln ist.

17. Verfahren einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16 zur Trennung und/oder Reinigung von Biopolymeren, insbesondere Nukleinsäuren und Proteinen, aus pflanzlichen, tierischen oder menschlichen Zellen oder Zellteile beinhaltenden Flüssigkeiten.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

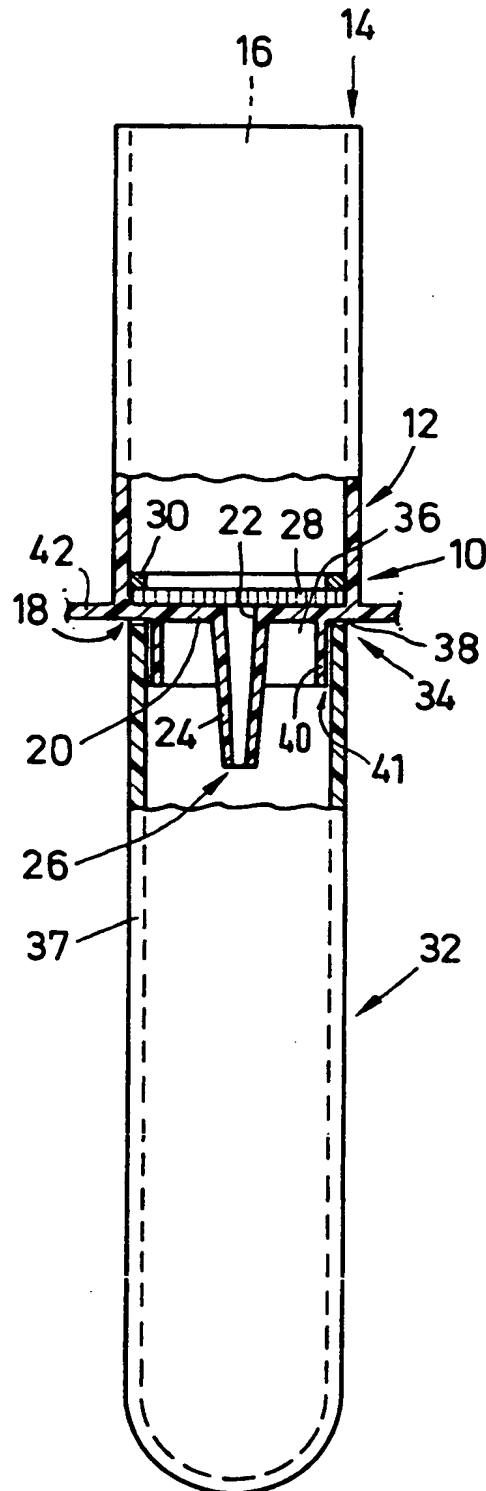


FIG.1

FIG. 2

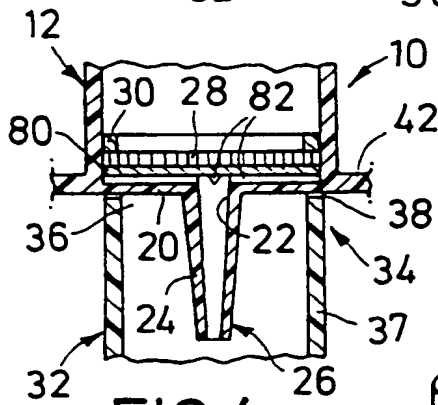
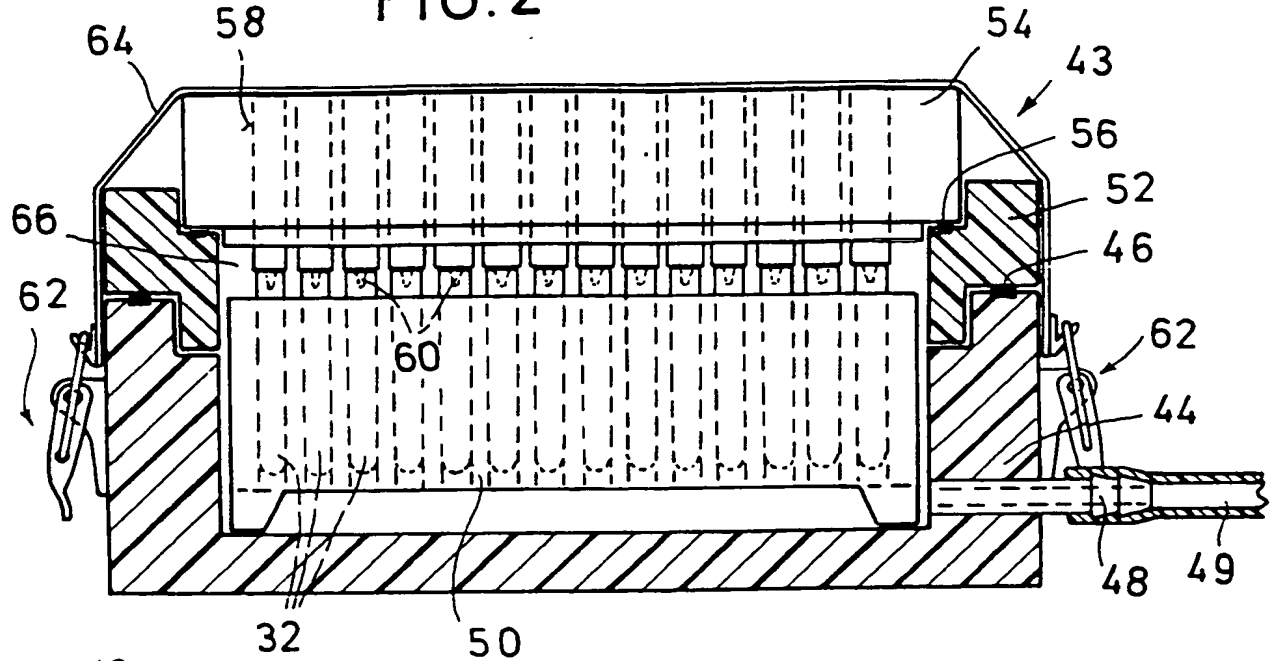


FIG. 4

FIG. 3

